



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **PERIODONTITE E EXPRESSÃO GÉNICA**

Trabalho submetido por  
**Inês Cristina Pedro Rebocho**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**setembro de 2016**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **PERIODONTITE E EXPRESSÃO GÉNICA**

Trabalho submetido por  
**Inês Cristina Pedro Rebocho**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Alexandra Maia e Silva**

e coorientado por  
**Mestre Sónia Silvério**

**setembro de 2016**



## **DEDICATÓRIA**

“Nenhum trabalho de qualidade pode ser feito sem concentração e auto-sacrifício,  
esforço e dúvida”.

Max Beerbohm



## **AGRADECIMENTOS**

Aqui agradeço a todos aqueles que contribuíram para que me fosse possível a realização deste trabalho de final de curso.

À Professora Doutora Alexandra Maia e Silva pela orientação deste trabalho. Pela pronta disponibilidade, compreensão e facilidade de comunicação que, sem qualquer dúvida, contribuíram para que a realização deste trabalho fosse possível.

À minha coorientadora, Mestre Sónia Silvério, por todo o seu trabalho, pela sua ajuda, todo apoio e paciência que me deu.

Aos meus pais, sem eles o início e consequentemente a finalização deste curso não teria sido possível. Agradeço-lhes pela ajuda, apoio e compreensão que me deram ao longo de toda a vida e, principalmente, neste últimos anos.

Ao meu irmão, pelas suas palavras encorajadoras e motivadoras para não desistir mesmo que o caminho seja incerto.

À minha mãe, pai e avós pela sua compreensão, apoio e paciência incondicionais que permitiram a realização deste trabalho.

A colegas que me foi possível conhecer nesta instituição, agora meus grandes amigos: Inês Martins, Teresa Lucas, Sofia Martins, Catarina Patinha, Ricardo Cenicante. Muito obrigado por tornarem esta viagem muito mais alegre e agradável e por fazerem parte da minha vida.

A amigos que já faziam parte da minha vida antes de decidir abraçar esta viagem e que sempre me apoiaram e estiveram presentes quando precisei, Rocha, Rodrigo, Margarida e Micaela, muito obrigado.

E a todas as pessoas que não mencionei mas que sabem que fizeram parte da minha vida e me guiaram no caminho certo.





## RESUMO

**Introdução:** A periodontite é uma doença multifatorial na qual ocorre inflamação e destruição dos tecidos que constituem o periodonto. Essa destruição ocorre num indivíduo suscetível como resposta a uma agressão bacteriana presente na flora oral. Entre os vários fatores de risco da periodontite temos o tabaco, sexo, idade, placa bacteriana e a fatores genéticos.

Tem-se constatado cada vez mais que o genótipo de um indivíduo tem bastante influência na capacidade de resposta do seu sistema imune e na patogênese de várias doenças, o que poderá explicar os diferentes graus de suscetibilidade e severidade da periodontite que se observam entre os diferentes pacientes.

Tendo em conta que as citocinas medeiam a resposta imune, a desregulação da sua produção e secreção controladas por mecanismos epigenéticos, poderão comprometer o seu papel na patogênese na periodontite. Através da epigenética que controla a expressão génica bem como polimorfismos dos genes que codificam as citocinas, poderão surgir alterações da suscetibilidade ou severidade da periodontite.

**Objetivos:** Face à discrepância de evidência que existe sobre a influência dos mecanismos da epigenética e de polimorfismos dos genes de interleucinas na periodontite, realizou-se esta revisão na tentativa de reunir a informação mais recente sobre este assunto e salientar a importância dos fatores genéticos, que poderá ser a possível causa de alguns fracassos no tratamento da periodontite.

**Metodologia:** Foi realizada uma extensa pesquisa bibliográfica com recurso a bases de dados eletrónicas *online* (*PubMed* e *b-on*).

**Conclusão:** Apesar dos numerosos estudos realizados que relacionaram a periodontite com epigenética e polimorfismos de citocinas, não é possível ainda retirar conclusões definitivas.

**Palavras-Chave:** Periodontite; Epigenética; Polimorfismo, Interleucinas



## ABSTRACT

**Introduction:** Periodontitis is a multifactorial disease which consists on the inflammation and destruction of periodontal tissues. Such destruction occurs in a susceptible individual as a response to the bacteria in oral flora. Smoking, sex, age, dental plaque and genetics are some of the risk factors of periodontitis.

The role of genetics has been showing a preponderant influence in the immune response and pathogenesis of several diseases, which may be the answer for the different susceptibility and severity in periodontal patients.

Since cytokines mediate the immune response, if there are irregularities in the genetic mechanisms which regulate their production and secretion, their function may compromise the pathogenesis of periodontitis. Such irregularities may come in the form of altered epigenetics which controls gene expression or gene polymorphisms, which may influence the susceptibility and severity of periodontitis.

**Objectives:** Due to conflicting scientific evidence about the influence of epigenetics and interleukins polymorphisms in periodontitis, this review took place as an attempt to collect the most recent information on the topic and highlight the importance of genetics, since it may be behind treatment failure in periodontitis.

**Methodology:** An intense research on the subject was performed resorting to online databases (*PubMed and b-on*)

**Conclusion:** Despite the range of studies conducting researches which try and relate periodontitis and epigenetics and cytokine polymorphisms, one cannot draw definite conclusions.

**Key words:** Periodontitis; Epigenetics; Polymorphism; Interleukins



## Índice Geral

I. INTRODUÇÃO .....	11
II. DESENVOLVIMENTO .....	15
<b>1. Doença Periodontal</b> .....	17
1.1 Etiologia.....	18
1.2. Diagnóstico.....	20
1.3. Fatores de Risco.....	23
1.4. Classificação.....	24
1.4.1 Periodontite Agressiva.....	24
1.4.2 Periodontite Crónica .....	26
1.5. Tratamento e Prevenção .....	27
<b>2. Genética</b> .....	27
2.1 Polimorfismo .....	28
2.2. Epigenética .....	28
2.2.1 Metilação do DNA.....	30
2.2.2 Modificação de histonas .....	31
<b>3. Citoquinas</b> .....	32
3.1 Citoquinas e inflamação .....	32
3.2 Citoquinas na periodontite.....	33
<b>4. Periodontite e Epigenética</b> .....	34
<b>5. Periodontite e polimorfismos de citoquinas</b> .....	38
5.1 Polimorfismo do gene de IL-1 .....	39
5.2 Polimorfismo do gene de IL-6.....	41
5.3 Polimorfismo do gene de IL-10.....	42
5.4 Polimorfismo do gene de TNF- $\alpha$ .....	43
5.5 Outros polimorfismos de genes de interleucinas .....	44
III. CONCLUSÃO.....	45
IV. BIBLIOGRAFIA.....	49



## Índice de Figuras

Figura 1. Componentes do periodonto .....	17
Figura 2. Anatomia macroscópica da gengiva.....	20
Figura 3. Imagem radiográfica de um paciente com periodontite crónica severa.....	22
Figura 4. Relação entre os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos com a patogénese da periodontite.....	23
Figura 5. Inibição de genes através da metilação de DNA e desacetilação de histonas.	32





## **Lista de Abreviaturas**

DNMT – DNA metiltransferase

IL – interleucina

JAC – Junção amelocementária

NIP – Nível de Inserção Periodontal

PA – Periodontite agressiva

PAG – Periodontite agressiva generalizada

PAL – Periodontite agressiva Localizada

PC – Periodontite Crónica

PS – Profundidade de Sondagem

SnP – *Single nucleotide polymorphisme* (polimorfismo de nucleótido único)



---

# **I. INTRODUÇÃO**



## **I. INTRODUÇÃO**

A doença periodontal é uma doença progressiva que afeta os dentes e os tecidos que os envolvem. Pode ser classificada como gengivite numa fase inicial em que só existe inflamação dos tecidos, que poderá progredir para periodontite em casos mais avançados, e consequentemente formação de bolsas. Para distinguir as diferentes velocidades de instalação e progressão da periodontite, denomina-se periodontite crónica em casos de evolução lenta da doença, e periodontite agressiva na instalação súbita e rápida evolução (Antonini, Cancellier, Ferreira, Scaini & Streck, 2013).

Perante invasão microbiana nos tecidos periodontais pela presença de placa, o periodonto reage de forma a combater a inflamação e desencadeando reações imunológicas de forma a proteger os tecidos (Antonini et al, 2013). Como o biofilme é o principal fator desencadeante da periodontite, é possível controlar a progressão da doença através da sua remoção no âmbito da consulta de medicina dentária (Philstrom, Michalowicz, Johnson, 2005) e através da implementação de cuidados de higiene pelo paciente (Chapple, 2009).

A periodontite é uma doença inflamatória multifatorial que afeta os tecidos de suporte à volta do dente, resultante das interações entre bactérias periodontopatogénicas e dos mecanismos desencadeados pela resposta imune do hospedeiro. A suscetibilidade a esta doença varia consoante o controlo imunológico do hospedeiro perante uma infeção causada pelas bactérias, no entanto, a sua progressão e severidade também dependem de fatores ambientais, comportamentais e genéticos (Gómez et al, 2007).

Apesar da sua natureza infecciosa, os fatores genéticos têm adquirido cada vez maior importância na etiologia da periodontite. Como já foi referido, as bactérias periodontopatogénicas têm um papel fulcral no processo inflamatório dos tecidos, mas a sua interação com os fatores endógenos do hospedeiro, nomeadamente genéticos, poderão contribuir para a progressão da doença (Ricci et al, 2011).

A epigenética estuda as alterações herdadas da expressão génica sem que ocorra modificações na sequência do DNA. Os mecanismos epigenéticos têm a capacidade de alterar a expressão dos genes através de fatores exógenos e permitem uma estabilidade na expressão desses genes. Os fatores genéticos de um indivíduo inter-relacionam-se

através da epigenética o que irá influenciar a manifestação de um determinado fenótipo (Barros, Offenbacher, 2014). Os principais processos epigenéticos responsáveis pela regulação são, a metilação do DNA, a modificação das histonas e regulação da expressão gênica através de RNA não codificantes (Bayarsaihan, 2011).

As alterações epigenéticas da expressão gênica que são herdadas, diferem das variações genéticas que existem na população, mais conhecidas por polimorfismos genéticos, os quais não incidem na sequência nucleotídica (Barros, Offenbacher, 2014).

Apesar da sua natureza infecciosa, os fatores genéticos têm adquirido uma maior relevância na etiologia da periodontite. Como já foi referido, as bactérias periodontopatogénicas têm um papel fulcral na inflamação dos tecidos, mas a sua interação com os fatores genéticos do hospedeiro, é que contribuem para a progressão da doença (Ricci et al, 2011).

Numa doença multifatorial, não é fácil identificar as variações genéticas que estão associadas a doenças complexas. Quando se consegue identificar um genótipo, utilizam-se SNP (*single nucleotide polymorphism*) como marcadores genéticos. Um polimorfismo genético é uma variação genética que tem de ocorrer em pelo menos 1% da população. As mutações genéticas são outro conceito necessário definir, pois trata-se de uma variação nucleótida única que não é fixa na população. A intensidade de expressão fenotípica de um indivíduo pode ser alterada pela variabilidade polimórfica que influenciam a sua expressão gênica (Lindroth, Park, 2013).

---

## **II. DESENVOLVIMENTO**





## 1. Doença Periodontal

Os tecidos que constituem periodonto são a gengiva, o cimento radicular, o ligamento periodontal e o osso alveolar (Lindhe, 2015), como é ilustrado na figura 1.

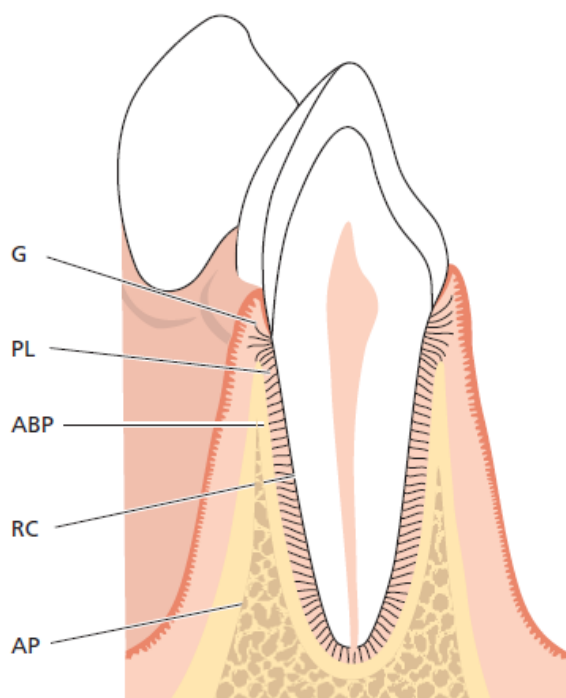


Figura 1. Componentes do periodonto. Legenda: G- Gengiva; PL – Ligamento Periodontal; ABP – Osso alveolar próprio; RC – Cimento radicular; AP – Osso alveolar Adaptado de (Lindhe, 2015).

Entende-se por doença periodontal, qualquer enfermidade adquirida ou herdada que afete os tecidos que circundam e suportam os dentes. Normalmente, doença periodontal refere-se a inflamações comuns, tais como gengivite ou periodontite, provocadas por organismos patogénicos que compõem o biofilme ou a placa bacteriana que se formam diariamente. A gengivite pode preceder a periodontite e é a forma mais leve de doença periodontal, sendo reversível através de um eficaz controlo de placa (Philstrom et al, 2005).

Quando a inflamação atinge os tecidos em profundidade e compromete o suporte do dente e o osso alveolar, essa inflamação denomina-se periodontite (Philstrom et al, 2005). A destruição progressiva destes tecidos é irreversível e pode levar à perda dos dentes (Tataki, Kumar, 2005).

Segundo Canton, “a definição de periodontite é a inflamação dos tecidos de suporte que se encontram à volta do dente – uma alteração progressiva e destrutiva que leva à perda de osso e ligamento periodontal. A atividade doença periodontal refere-se ao estado da doença caracterizado pela perda de osso e tecidos de suporte o que implica que a história natural da doença periodontal seja marcada por períodos de destruição e de quiescência, apesar de se manter a inflamação dos tecidos periodontais” (Highfield, 2009).

## **1.1 Etiologia**

A doença periodontal é considerada uma doença multifatorial, embora a sua predisposição genética não seja suficiente para o aparecimento desta patologia. Podemos considerar que as doenças genéticas complexas ou multifatoriais possuem um perfil no qual estão envolvidas interações entre os produtos de diferentes genes e fatores ambientais (Gómez et al, 2007).

A presença de placa bacteriana nos tecidos periodontais desencadeia uma resposta imune e inflamatória, que resulta na destruição dos tecidos periodontais levando aos sinais clínicos da periodontite. A presença de fatores de risco e agressão bacteriana contínua, pode levar a uma resposta deficiente ou excessiva, mediada por citocinas, levando à destruição do tecido duro e mole (Philstrom et al, 2005).

O contacto da placa bacteriana tem o potencial de causar danos nos tecidos, através de enzimas e moléculas produzidas pelo próprio hospedeiro que prejudicam as suas células. No entanto, a placa bacteriana acumulada provoca maior dano através de processos indiretos que inicia e propaga a resposta inflamatória pelos tecidos (Tataki, Kumar, 2005).

A presença de bactérias periodontopatogénicas inicia o estado inflamatório e ataca continuamente o hospedeiro, o que estimula uma resposta imune. No entanto, a presença das bactérias por si só não desencadeia uma resposta inflamatória (Wolf, Lamster, 2011; Yoshie, Kobayashi, Tai, Galicia, 2007). A suscetibilidade à periodontite de cada indivíduo depende de uma curva de dose-resposta da placa bacteriana necessária para desencadear a doença (Wolf, Lamster, 2011; Ricci et al, 2011).

A suscetibilidade à doença periodontal depende do balanço existente ao nível do controlo imunológico de uma infeção induzida pelas bactérias periodontopatogénicas (Gómez et al, 2007).

Em estudos realizados sobre a suscetibilidade na periodontite, esta varia entre os indivíduos, em 10% apresenta elevada suscetibilidade à doença enquanto outros 10% eram extremamente resistentes (Tataki, Kumar, 2005).

Atualmente, pensa-se que para haver uma atividade patológica da doença periodontal num hospede suscetível, é necessário que haja um número crítico de microorganismos patogénicos (Gómez et al, 2007; Tataki, Kumar, 2005).

Foi determinado, que a placa bacteriana é um fator essencial para o surgimento e desenvolvimento da doença periodontal, no entanto, pacientes com um controlo eficaz de placa sofrem baixo risco de desenvolver a doença, enquanto pacientes com má higiene oral apresentam um risco mais elevado ao aparecimento da doença. Para pacientes com uma higiene moderada a boa, outros fatores, como o tabaco, diabetes, poderão ser as causas mais prováveis para o aparecimento, desenvolvimento e severidade da doença periodontal. Estes fatores de risco da doença periodontal podem disfarçar a importância e influência dos fatores genéticos que podem ser relevantes na sua ausência (Rodrigo-Gomez, Oteo-Calatayud, Alonso-Rosado, Bascones-Martinez, 2007).

A primeira linha de defesa na doença periodontal consiste na imunidade inata, na qual participam neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e células dendríticas e epiteliais, responsáveis por um estado pré-clínico de inflamação fisiológica em resposta à placa bacteriana. No caso de o organismo não conseguir controlar esta primeira fase através da imunidade inata, recorre a cascatas inflamatórias e a uma resposta imunitária adaptativa (Nibali, 2015).

A presença de neutrófilos nas lesões gengivais e nas superfícies radiculares na periodontite agressiva, pode ser responsável por uma predisposição da doença devido a uma resposta inadequada, sendo exemplos, adesão aumentada, quimiotaxia diminuída, o aumento da produção de peróxido de hidrogénio e óxido nítrico, e fagocitose reduzida. Todas estas características provocadas pelo aumento do número de neutrófilos, aumentam a suscetibilidade dos indivíduos com acumulação de placa subgengival (Nibali, 2015).

## 1.2. Diagnóstico

No periodonto saudável, encontram-se características clínicas que são apenas visíveis ao nível da gengiva, de cor rosada e com *stippling* no caso dos caucasianos, e diferentes graus de pigmentação noutras raças (Highfield, 2009).

No periodonto saudável, a gengiva apresenta um bordo em lâmina de faca que contorna o dente e a sua margem localiza-se ao nível da junção amelocementária (JAC). Existe um espaço virtual que pode atingir até os 3 mm de profundidade, que se denomina de sulco gengival, entre a margem gengival que contorna o dente e o próprio dente que carece de hemorragia à sondagem na ausência de patologia (Wolf, Lamster, 2011; Highfield, 2009).

A gengiva livre encontra-se na parede lateral do sulco gengival. A gengiva aderida é delimitada pela porção mais apical do sulco gengival e pela linha mucogengival que pode atingir até 9 mm de largura. Na imagem (Fig. 2), pode-se observar que a gengiva aderida é um tecido imóvel, que se encontra intimamente aderida ao osso e resistente a lesões devido à presença de uma mucosa queratinizada. A mucosa alveolar é um tecido móvel não queratinizado que se prolonga para apical da linha mucogengival. A ausência de gengiva aderida nesta localização é normalmente indicador de defeitos mucogengivais e de doença (Highfield, 2009).

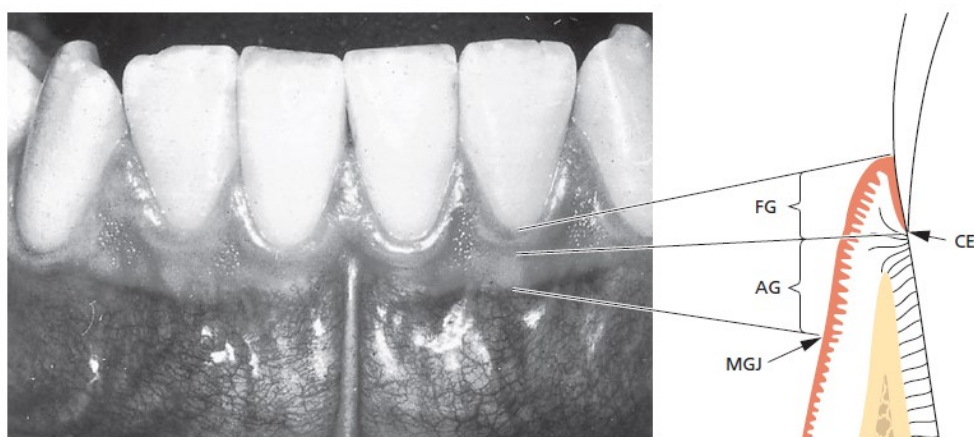


Figura 2. Anatomia macroscópica da gengiva. FG – Gengiva livre; AG – Gengiva aderida; MGJ – Junção mucogengival; CEJ – Junção amelocementária. Adaptado de (Lindhe, 2015).

Em saúde periodontal, o sulco gengival e a distância entre a crista óssea e a JAC podem ambos medir entre 1 e 3 mm. Para um diagnóstico preciso, a sonda periodontal continua a ser a principal ferramenta que permite a medição de bolsas periodontais pela profundidade de sondagem, desde a margem gengival ao limite apical da bolsa, e o nível de inserção periodontal, que se mede desde a JAC à base do sulco ou bolsa (Highfield, 2009).

O nível de inserção periodontal é um método mais fiável para medir a perda de suporte, pois é avaliado de um ponto fixo, a JAC. O nível de inserção periodontal obtém-se pela subtração da distância que vai da margem gengival até à JAC quando a margem se encontra a coronal da linha, à profundidade de sondagem previamente medida. Perante recessões gengivais, o nível de inserção periodontal resulta da soma da profundidade de sondagem com a distância que se observa da margem gengival à JAC (Wolf, Lamster, 2011).

O diagnóstico de doenças periodontais é também realizado através da observação de alterações clínicas dos tecidos e sinais e sintomas, suportados pela observação de lesões radiográficas. Alterações de cor, contorno, textura e hemorragia permitem a deteção de doenças periodontais induzidas por placa (Highfield, 2009; Philstrom et al, 2005). Nas doenças não induzidas pela presença de placa o diagnóstico é auxiliado por radiografias, microbiologia, histologia ou serologia. As alterações gengivais que ocorrem na gengivite e a presença de um sulco aumentado ou bolsas com perda de suporte periodontal detetadas na sondagem, permite o diagnóstico da periodontite (Wolf, Lamster, 2011; Highfield, 2009). Estas bolsas periodontais podem ser verticais ou horizontais pelo que se tem de ter o cuidado de analisar lesões de furca (Wolf, Lamster, 2011).

Apesar de também se poder detetar migração e mobilidade dentária, estas observações não são indicativos de periodontite mas consequências da doença que permitem determinar um prognóstico e plano de tratamento (Highfield, 2009). A história familiar, presença de fatores de risco (tabaco, stress drogas e hormonas), permitem descrever o tipo de patologia, podendo recorrer a imagens radiográficas (Fig.3) como uma ferramenta secundária de diagnóstico, o que permite confirmar a perda óssea (Highfield, 2009; McLeod, 2000).



Figura 3. Imagem radiográfica de um paciente com periodontite crónica severa. Observação clínica (A) e imagem radiográfica correspondente (B). Adaptado de (Newman, Takei, Klokkevold, Carranza,

O facto do diagnóstico clínico da periodontite se realizar com base na perda dos tecidos suporte, constitui o problema de não ser feita uma análise biomédica da progressão da doença nos tecidos com base em biomarcadores, identificação de microrganismos patogénicos ou histopatologia (Highfield, 2009).

### 1.3. Fatores de Risco

A manifestação e progressão da doença periodontal são influenciadas por fatores intrínsecos e extrínsecos (Fig.4) (Schulz et al, 2016; Lindroth, Park, 2013). Entre esses fatores temos tabaco, diabetes (Wolf, Lamster, 2011), raça, estirpes específicas de bactérias *gram* negativas no biofilme, ausência de higiene oral, influência genética, sexo, idade, stress e depressão (Philstrom et al, 2005).

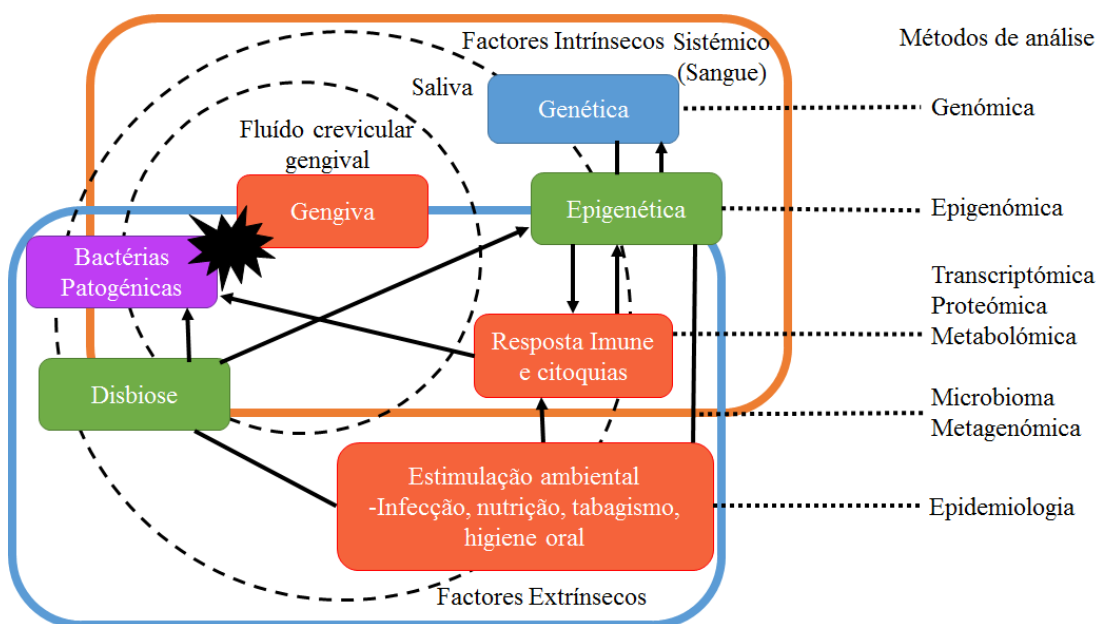


Figura 4. Relação entre os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos com a patogênese da periodontite (A). Os métodos de análise permitem identificar os fatores genéticos, padrões epigenéticos, os mecanismos de transcriptômica, proteômica e metabolômica, e microbioma que estão relacionados com os fatores ambientais (B). Adaptado de (Lindroth, Park, 2013)

A progressão da doença depende bastante da capacidade de resposta, de um indivíduo, a uma agressão bacteriana. Sabe-se que na doença periodontal existem diferentes suscetibilidades interindividuais. Nas últimas décadas, a etiologia da doença periodontal tem sido alvo de diversos estudos, a fim de poder determinar a sua associação com variações genéticas. Essas alterações genéticas influenciam a resposta imune (Schulz et al, 2016), o que explica uma suscetibilidade aumentada em certas pessoas e resistência ao tratamento (Lindroth, Park, 2013).

No estudo da periodontite crônica, tem sido colocada a hipótese das citocinas possuírem num papel importante no que diz respeito ao processo destrutivo na doença periodontal. Ao longo dos tempos, o número de estudos que aborda a associação de

polimorfismos genéticos de certas citocinas com a periodontite aumentou, e vários estudos demonstraram que diferentes citocinas encontram-se envolvidas na doença periodontal (Ianni et al, 2013).

Inúmeros artigos científicos, referem que os genes têm um papel indispensável na resposta inflamatória do hospedeiro e a sua influência na progressão da doença. Através de variantes alélicas, podem gerar-se variações na estrutura dos tecidos (imunidade inata), resposta por anticorpos (imunidade adaptativa) e mediadores inflamatórios (inflamação não-especificada). As variações genéticas que ocorrem podem ser tanto protetoras como aumentar o risco de algumas condições metabólicas, o que demonstra a complexidade genética da doença periodontal cujo fenótipo é determinado pela modelação genética e influências ambientais (Yoshie et al, 2007).

## **1.4. Classificação**

### **1.4.1 Periodontite Agressiva**

A periodontite agressiva é caracterizada, por surgir em adolescentes saudáveis em que o periodonto sofre uma rápida perda óssea em mais do que um dente definitivo (Joshapura, Yadalam, Brahmavar, 2015; Highfield, 2009). A quantidade de agentes irritantes não é proporcional ao grau de destruição (Joshapura et al, 2015), sendo o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e a *Porphyromonas gingivalis* os microrganismos mais frequentes (Highfield, 2009). Devido a variações interindividuais, no que diz respeito à resposta do organismo perante a acumulação de placa bacteriana, verificam-se diferentes graus de inflamação gengival. As alterações na inflamação nestes indivíduos, pode ser causada por desequilíbrios metabólicos ou defeitos hereditários na resposta imune (Nibali, 2015).

As características determinantes do diagnóstico da periodontite agressiva consistem num início precoce da doença, um padrão radiográfico distinto de perda óssea que abrange vários dentes, e ausência de doenças sistémicas que afetem a resposta imune. O tipo de reabsorção identifica-se pela perda óssea vertical bilateral em interproximal dos dentes posteriores (Joshapura et al, 2015; Albandar, 2014).



Em termos de classificação, podemos dividir em periodontite agressiva localizada (PAL) e periodontite agressiva generalizada (PAG). No primeiro caso, os dentes afetados são os primeiros molares e incisivos em interproximal. Na PAG, pelo menos três dentes permanentes, além dos incisivos e primeiros molares, sofrem perda óssea interproximal (Joshi et al, 2015; Highfield, 2009).

Como características clínicas da PAL, é possível observar de bolsas periodontais profundas na ausência de sinais inflamatórios. O grau da destruição óssea é desproporcional em relação à quantidade de placa existente, altamente patogénica, e raramente mineraliza para cálculo. Existem outros aspetos clínicos que podem ser observados como consequência da progressão da doença, tais como migração distolabial dos incisivos com formação de diastemas, mobilidade nos dentes afetados, sensibilidade aumentada em dentes com recessões gengivais e exposição do cimento, dor irradiada no maxilar e linfadenopatia (Joshi et al, 2015). O principal microrganismo que se pensa ser um dos responsáveis pelo aparecimento da PAL, é o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Tatakis, Kumar, 2005).

No caso da PAG, existem pelo menos três dentes afetados pela perda óssea acentuada em indivíduos com menos de 30 anos, em que a quantidade de placa bacteriana não reflete a destruição, mas sim a presença de alguns microrganismos (Joshi et al, 2015; Highfield, 2009). Infelizmente, ainda não se conseguiu estabelecer qual o principal organismo responsável pelo aparecimento da PAG (Tatakis, Kumar, 2005).

Podemos também encontrar dois tipos de resposta dos tecidos. Na fase destrutiva temos inflamação e ulceração dos tecidos com hemorragia espontânea, enquanto numa fase de latência, observamos gengiva rosa de aspeto saudável, *stippling* e bolsas profundas (Joshi et al, 2015; Highfield, 2009).

No que diz respeito às cascatas de inflamação e reações imunológicas na periodontite, sobre a resposta aos microorganismos *gram* negativos, a destruição do periodonto encontra-se sobre um controlo genético rigoroso. Este controlo é determinado pelo contributo das variantes polimórficas de genes, que poderão ser associadas à periodontite (Joshi et al, 2015).

Num modelo experimental da gengivite, os casos de periodontite agressiva tratada, demonstraram um aumento de resposta inflamatória, o que sugere um estado constitutivo de hiper-inflamação. Assim, propôs-se que a resposta do hospedeiro contribuiria para uma maior velocidade de destruição dos tecidos do periodonto, na presença de agressões bacterianas constantes. Na PA hereditária, determinados genótipos relativos à resposta do hospedeiro, foram alvos de estudos pois podem ser os responsáveis por defeitos constitutivos nos neutrófilos ou disfunções noutras vias da resposta inflamatória. A suscetibilidade da periodontite agressiva e da crónica, é bastante influenciada por variações étnicas, responsáveis por fortes associações genéticas (Nibali, 2015).

#### **1.4.2 Periodontite Crónica**

Dependendo da quantidade de localizações afetadas pela doença, a periodontite crónica pode ser classificada como localizada ou generalizada. No primeiro caso, as zonas afetadas atinge até os 30% e na periodontite crónica generalizada ultrapassa este valor (Highfield, 2009).

A periodontite crónica atinge principalmente adultos, podendo no entanto, também afetar crianças e adolescentes. Tem uma progressão lenta a moderada, embora possa apresentar períodos de progressão rápida, e o grau de destruição periodontal é compatível com fatores presentes, tais como cálculo subgengival e uma composição bacteriana característica (Highfield, 2009; Armitage, 1999). É uma doença assintomática até atingir um estado mais avançado, no qual se detecta migração e/ou mobilidade dentária, bolsas e/ou recessões gengivais. Os abscessos periodontais e halitose também são frequentes em casos mais severos (Philstrom et al, 2005).

De acordo com a sua severidade, podemos dividir a periodontite crónica em ligeira, moderada ou severa. Na periodontite ligeira, existe apenas perda de inserção ao nível do terço coronal; no caso da moderada atinge o terço médio, e severa quando o osso se encontra no terço apical do dente (Highfield, 2009).

Segundo o Workshop Internacional de 1999 em relação à classificação das doenças periodontais, definiu-se a severidade de acordo com o nível de inserção óssea, sendo entre 1-2 mm no caso da periodontite ligeira; 3-4 mm na moderada e igual ou

superior a 5 mm na periodontite severa. Na periodontite crónica, o controlo de placa influencia o estado da inflamação e com a progressão da doença leva a migração e mobilidade dentária (Highfield, 2009).

### **1.5. Tratamento e Prevenção**

A prevenção do aparecimento da periodontite consiste principalmente na manutenção e controlo dos fatores de risco. Uma técnica correta de escovagem e utilização de métodos de higiene interproximal, permitem a remoção da placa bacteriana da superfície dentária. Para complementar, dentífricos e elixires são também adjuvantes na manutenção do biofilme, por conterem substâncias anti-bacterianas (Philstrom et al, 2005; Lindhe et al, 2015). Sendo o tabaco um dos principais fatores de risco para o aparecimento da doença periodontal, é de salientar a importância da cessação tabágica, uma vez que neste grupo de risco há uma maior progressão na reabsorção óssea (Philstrom et al, 2005).

O tratamento da periodontite baseia-se no tratamento não cirúrgico para remoção do biofilme e agentes infecciosos produzidos pelas bactérias das superfícies dentárias e radiculares (Philstrom et al, 2005; McLeod, 2000). O tratamento não cirúrgico aliado aos cuidados de higiene oral permite a redução da inflamação dos tecidos e profundidade de bolsas periodontais, assim como uma melhoria do nível de inserção clínica dos tecidos. Pode também incluir-se, antibióticos e agentes antissépticos locais e ainda antibióticos sistémicos (Philstrom et al, 2005).

## **2. Genética**

A informação genética encontra-se sob a forma de cromossomas nas células que consiste em moléculas de DNA associadas a proteínas. A maioria das células eucarióticas existem dois conjuntos de genes, provenientes de cada um dos progenitores. A informação presente em cada par, contém informação genética para as mesmas características, denominadas de alelos. No entanto, os alelos de cada par de cromossomas podem não conter a mesma informação para a mesma característica. Assim, células que contenham dois conjuntos de informação genética designam-se células diplóides, e células que apenas possuam um conjunto de cromossomas denominam-se células haplóides (Pierce, 2013).

## 2.1 Polimorfismo

Entende-se por genótipo a composição genética de um organismo, e o fenótipo é a manifestação da sua expressão. O fenótipo manifesta-se pela interação dos genes com o ambiente. As manifestações dos genótipos podem ocorrer como simples características do organismo, como também para o risco de desenvolver patologias. Essas patologias podem ser causadas por um gene, denominando-se monogénicas, alguns genes, neste caso serão multigénicas, ou quando uma panóplia de genes estão envolvidos, será poligénica. No caso da doença periodontal, temos como fatores etiológicos, a genética e as interações com o ambiente circundante, sendo por isso designada como uma patologia multifatorial. O conjunto das variações genéticas com os fatores ambientais é o ponto-chave que vai determinar as diferenças fenotípicas entre indivíduos (Rodrigo-Gómez et al, 2007).

As diferentes formas de um gene podem ser denominadas como variante alélica ou alelo, e denomina-se polimorfismo genético quando um alelo específico ocorre pelo menos em 1% da população. Nas variações alélicas, por vezes ocorre apenas a alteração de 1 dos 4 nucleótidos (SNP), o que pode levar a diferenças na composição de aminoácidos das proteínas e alterar a sua taxa de atividade (Kinane, Hart, 2003).

Polimorfismos genéticos são, por conseguinte, considerados variações normais que ocorrem na população, podendo dar origem, ou não, a variações no fenótipo (Rodrigo-Gómez et al, 2007).

Um polimorfismo pode dar origem a uma proteína diferente ou alterar a quantidade que normalmente seria produzida, e comprometer a sua função. Se essa proteína participar na resposta inflamatória, esse polimorfismo poderá aumentar ou diminuir o risco do aparecimento de doenças. Um SNP (*single nucleotide polymorphism*) pode ou não afetar o produto de um gene, levando ao risco de doença, que depende da variação específica que ocorreu e do tipo de doença (Kinane, Hart, 2003).

## 2.2. Epigenética

Os fenómenos epigenéticos ocorrem através de modificações químicas do DNA e proteínas associadas, modelando a cromatina e a ativação ou inativação seletiva de certos

genes, o que vai influenciar a sua expressão (Gomez, Dutra, Moreira, 2009). A reversibilidade destes mecanismos é bastante flexível, o que pode levar ao desenvolvimento de novos alvos de terapêutica para determinadas doenças (Bayarsaihan, 2011).

O epigenoma, que consiste no estado epigenético da cromatina e proteínas associadas de cada célula, tem a mesma importância que o genoma para o desenvolvimento de um indivíduo, pois representa a relação entre o genoma de um indivíduo e o ambiente (Lod, Johansson, Abrahamsson, Larsson 2014; Bayarsaihan, 2011). Diversos fatores como nutrientes, toxinas, infecções e hipóxia, podem afetar gravemente a epigenética e desenvolver suscetibilidade de certas doenças (Bayarsaihan, 2011). Esses fatores induzem alterações no epigenoma que se acumulam no organismo, que a longo prazo provocam o fenótipo de envelhecimento e desgaste que aumenta o risco de desenvolver doenças associadas à idade (Barros, Offenbacher, 2014).

Além das características genéticas, existe uma forte componente de regulação génica que influencia a resposta imune. A expressão génica é condicionada pela modificação epigenética, sem que tenha ocorrido alteração na sequência nucleotídica (Schulz et al, 2016).

Relativamente aos fenómenos que compreendem as modificações epigenéticas, podemos salientar a metilação distinta do DNA, ou alterações pós-traducionais nas histonas (Schulz et al, 2016). Dependendo da sua modificação, os nucleossomas permitem uma condensação ou uma descondensação do DNA, mantendo a integridade dos cromossomas durante a divisão celular (Lindroth, Park, 2013). O fenómeno de modificação epigenética melhor estudado, é a metilação do DNA nas ilhas CpG, que se encontram principalmente nas regiões promotoras de genes (Schulz et al, 2016).

Uma distribuição desfavorável de modificações inadequadas, pode levar a uma inativação de genes e conduzir ao aumento do risco de aparecimento de doenças (Lindroth, Park, 2013). O aparecimento de certas patologias, como cancro e doenças inflamatórias, já foram associadas a alterações epigenéticas. Devido à complexidade da periodontite, já foi considerada uma doença de relevância epigenética. Na doença periodontal, as alterações na metilação do DNA e na expressão génica tendem ser os

principais responsáveis pelos diferentes graus de suscetibilidade encontrada entre os diferentes indivíduos (Schulz et al, 2016).

### **2.2.1 Metilação do DNA**

A cromatina em termos estruturais pode organizar-se em duas formas, a heterocromatina que se encontra extremamente densa e transcritionalmente inativa, e eucromatina que se apresenta num estado mais desenrolado que permite a transcrição dos genes (Barros, Offenbacher, 2014).

A metilação do DNA e a desacetilação de histonas, são os mecanismos principais de alterações epigenéticas nas células humanas (Gomez et al, 2009). A metilação do DNA corresponde à adição de um grupo metil nas bases de citosina nas regiões CpG, enquanto na desacetilação de histonas ocorre a remoção do grupo acetil que altera a carga das histonas e consequentemente, a organização do DNA ao redor delas (Gomez et al, 2009; Barros, Offenbacher, 2014). Estes dois mecanismos bloqueiam a ligação de fatores de transcrição. Contudo, a modificação das histonas ocorre transitoriamente, enquanto a metilação do DNA mantém uma forma permanente (Gomez et al, 2009).

A metilação do DNA traduz-se na transferência covalente de um grupo metilo de S-adenosyl-L-metionina para as ilhas CpG das citosinas. As ilhas de CpG estão associadas à maioria das zonas dos genes promotores, pois carecem de metilação no DNA e encontram-se abundantemente em sequências de DNA do genoma dos mamíferos. Nas regiões não codificantes de genes dos eucariotas, encontram-se várias ilhas CpG que estão associadas a locais de repressão da transcrição, nas quais se incluem genes de desenvolvimento, sequências repetitivas e linhagens específicas de células (Bayarsaihan, 2011).

A metilação do DNA pode controlar a transcrição de duas formas. A forma metilada do DNA impede a ligação de fatores de transcrição nas regiões promotoras do gene e por outro lado, consegue ligar proteínas methyl-CpG-binding às regiões metiladas do DNA, impedindo a ligação dos componentes necessários para proceder à transcrição (Barros, Offenbacher, 2014)

Uma hipermetilação de um gene leva a uma inibição ou diminuição da sua expressão, permanecendo inactivo (Barros, Offenbacher, 2014).

A hipometilação que se encontra no DNA normalmente está associada a uma instabilidade dos cromossomas e ativação de genes responsáveis por cancro no ser humano (Bayarsaihan, 2011).

Embora a metilação de DNA seja responsável pela regulação de vários mecanismos do sistema imunitário, o silenciamento da transcrição de genes depende do nível de metilação das ilhas CpG dos genes que codificam as citocinas e da posição que ocupam na sequência (Gomez et al, 2009).

### **2.2.2 Modificação de histonas**

O nucleossoma é a unidade básica da cromatina, que é constituída por uma sequência de DNA que envolve as histonas, H2A, H2B, H3 e H4. Esta conformação confere uma estrutura condensada da cromatina. Um dos processos essenciais da epigenética consiste na modificação covalente das histonas (Barros, Offenbacher, 2014; Bayarsaihan, 2011).

A acetilação de histonas leva a uma conformação da cromatina que facilita a transcrição. Este processo induz uma menor afinidade do DNA e alteração da sua conformação, permitindo o acesso dos elementos necessários à transcrição. As enzimas responsáveis por estas modificações são, a acetiltransferase que descondensa a cromatina, enquanto as desacetilases provocam o inverso, levando à repressão de genes (Lod et al, 2014; Bayarsaihan, 2011).

A metilação de histonas consegue tanto induzir um estado de ativação ou repressão para a transcricional. Os genes que apresentem ambivalência para sofrerem modificações, são um elemento chave na regulação e ativação de células estaminais e pluripotentes para a sua diferenciação. A enzima metiltransferase é responsável pela metilação das histonas enquanto a demetilase realiza o efeito oposto (Bayarsaihan, 2011).

A ativação de genes inflamatórios é assegurada pela ação de acetiltransferase de histonas (HAT), que leva à acetilação das proteínas e à ativação desses genes. O aumento da acetilação de histonas está associado a uma diminuição da atividade da desacetilase de histonas (HDAC), responsável pela condensação da cromatina. Em contrapartida, a repressão génica e a desacetilação de histonas resultam do aumento do número de HDACs (Fig. 5). Estas enzimas regulam a transcrição de citocinas anti-inflamatórias e pró-

inflamatórias, pela sua interação com complexos repressores e fatores de transcrição nos genes promotores (Bayarsaihan, 2011; Gomez et al, 2009).

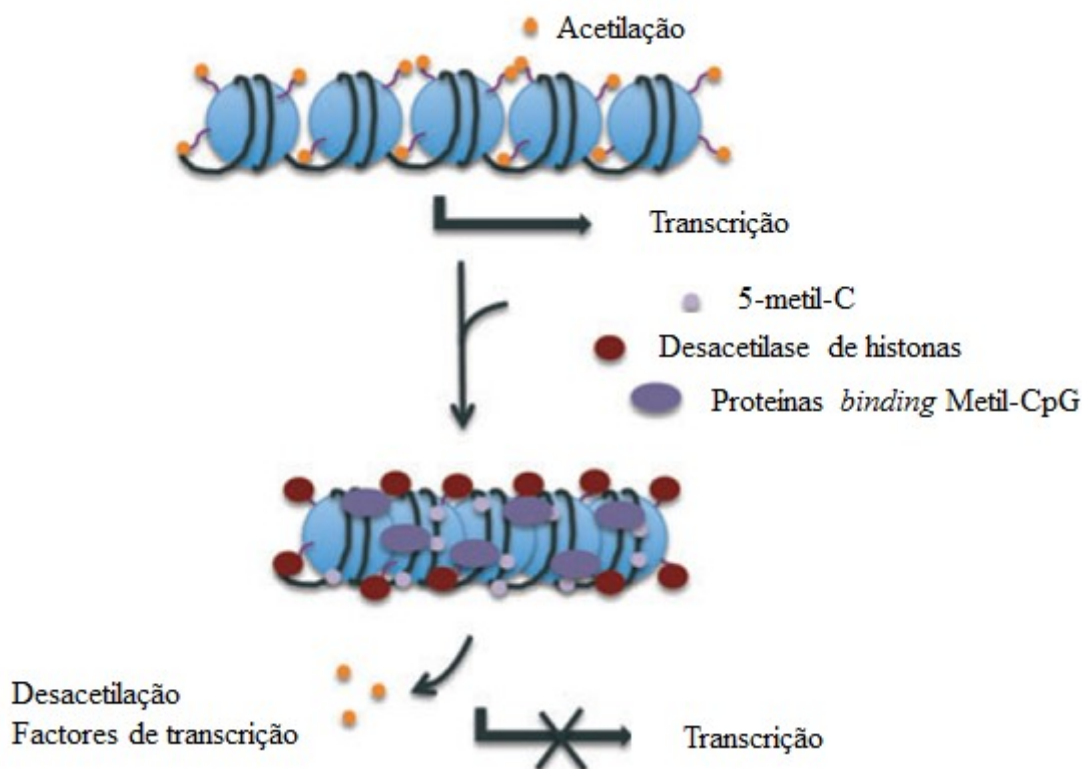


Figura 5. Inibição de genes através da metilação de DNA e desacetilação de histonas. A acetilação das histonas e uma conformação aberta da cromatina permite a transcrição dos genes. Por outro lado, a desacetilação das histonas leva à sua condensação e impede a expressão gênica. Adaptado de (Lod et al, 2014)

### 3. Citoquinas

#### 3.1 Citoquinas e inflamação

O organismo pode regular alguns dos seus processos biológicos através das interações entre as células mediadas por citoquinas que são pequenas proteínas solúveis. As citoquinas são produzidas e excretadas por várias células e têm capacidade de alterar o comportamento ou propriedades de outras células adjacentes ou a nível sistêmico (Okada, Murakami, 1998). As citoquinas têm um papel importante na regulação da comunicação celular através da ativação de outras células (Delvesl, Martins, Burton, Roitt, 2013; Stefani et al, 2013), controlando a proliferação, diferenciação, homeostasia, regeneração, reparação e inflamação (Okada, Murakami, 1998).



A homeostasia consiste num equilíbrio entre processos anabólicos e processos catabólicos. Este equilíbrio é mantido pela regulação da migração, proliferação e diferenciação das células que constituem a matriz dos tecidos (Lindhe, 2015).

As citocinas normalmente são produzidas mediante um estímulo, embora também possam ser produzidas mesmo na ausência de uma agressão ao organismo. Num estado de homeostasia ocorre a secreção de citocinas constitutivas. Por outro lado, num estado de inflamação são produzidas tanto por células que se encontrem no local, como por células imunocompetentes que se deslocam para ao local da inflamação (Lindhe, 2015; Okada, Murakami, 1998). Por exemplo, na primeira linha de resposta inflamatória os macrófagos além de neutralizarem o agente patogénico, secretam citocinas que vão atuar nas células circundantes (Delves et al, 2013).

### **3.2 Citocinas na periodontite**

Os fibroblastos, as células endoteliais e epiteliais são algumas células que constituem os tecidos periodontais e produzem citocinas neste estado de equilíbrio (Lindhe, 2015). Ao analisar a expressão de citocinas em tecidos com saúde gengival, observou-se a presença de citocinas inflamatórias, como IL-1 e TNF- $\alpha$ , embora em concentrações muito reduzidas quando comparados com tecidos com inflamação gengival (Okada, Murakami, 1998).

Ao ocorrer um desequilíbrio pela presença de um agente agressor, há um aumento de produção de citocinas que pode levar ao aparecimento de doenças ou de lesões nos tecidos (Stefani et al, 2013). Na doença periodontal, as bactérias periodontopatogénicas que habitam as bolsas periodontais, não invadem os tecidos mas permanecem em contacto constante, pelo que o organismo não as consegue eliminar, evoluindo para uma inflamação crónica. Esta inflamação crónica resulta de uma resposta excessiva e contínua do hospedeiro, ao recrutar outras células imunocompetentes que irão produzir mais citocinas. (Okada, Murakami, 1998).

Como citocinas inflamatórias de interesse periodontal, temos a IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  devido à sua ação promotora da reabsorção óssea (Lindhe, 2015). Em saúde periodontal, a IL-1 é responsável pela estimulação da proliferação de queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais, que produzem alguns componentes dos tecidos

periodontais, como procologéneo I, collagenases, ácido hialurónico e fibronectina. Quando há uma desregulação desta citocina, esta leva à degradação descontrolada dos tecidos. Além da sua sinergia com outras citocinas que provocam a reabsorção do osso alveolar, promove a produção de metaloproteinases que degradam a matriz dos tecidos (Lindhe, 2015; Okada, Murakami, 1998).

A IL-6 também participa na regulação da remodelação óssea, embora os seus níveis se encontrem aumentados quando há inflamação dos tecidos periodontais. Como esta citocina também participa na reabsorção óssea ao promover a formação e ativação de osteoclastos, existe uma forte evidência que poderá estar envolvida na patogénese na destruição dos tecidos de suporte periodontais (Stefani et al, 2013; Okada, Murakami, 1998).

Quando os macrófagos estão inativados, o TNF- $\alpha$  produzido induz a produção de IL-1 e ativa os osteoclastos que levam à reabsorção óssea. No entanto, quando as células detetam os lipopolissacáridos provenientes das bactérias *gram* negativas, há uma produção de TNF- $\alpha$  pelos monócitos que são recrutados para o local da lesão, desencadeando a reabsorção do osso alveolar (Okada, Murakami, 1998).

#### **4. Periodontite e Epigenética**

A inflamação crónica presente na doença periodontal é a resposta do organismo ao biofilme subgingival, que desencadeia vários mecanismos da imunidade inata e produz um complexo de citocinas que participa na patogénese da doença periodontal. Algumas modificações epigenéticas podem alterar transcrição dos genes ao tornarem-se estáveis e transmitidas ao longo de várias linhagens de células (Barros, Offenbacher, 2014). Semelhante ao que ocorre noutras doenças inflamatórias, nas bolsas periodontais ocorre também o aumento da transcrição de fatores envolvidos na inflamação e em alterações epigenéticas da cromatina (Lindroth, Park, 2013). Este fenómeno poderá explicar a persistência de inflamação periodontal ou a regeneração num determinado local ao invés de outro (Barros, Offenbacher, 2014).

A maioria dos estudos, sobre padrões de metilação em doenças humanas focam-se no cancro, no qual o silenciamento de genes através de processos epigenéticos, pode

estar associado a genes de supressão tumoral, reparação de DNA e outras vias fundamentais, uma vez comprometidas ou inativadas, que levam ao fenótipo neoplásico (Bayarsaihan, 2011; Gomez et al, 2009).

Estudos recentes, têm apontado que fenómenos epigenéticos têm a capacidade de influenciar a produção de determinadas citoquinas, o que contribui para a manifestação de certas doenças inflamatórias. O avançar da idade também predispõe a um aumento da metilação fisiológica. Em indivíduos mais idosos, existe um aumento de silenciamento de determinados genes o que contribui para o aparecimento de doenças crônicas (Gomez et al, 2009). Observou-se em alguns estudos que as bactérias têm a capacidade de alterar o estado de metilação do DNA e que os efeitos ambientais, a idade e o stress têm a sua influência nos mecanismos epigenéticos, que podem alterar a expressão génica e interferir com a resposta do organismo (Srinivasan, 2016).

O epigenoma encontra-se suscetível a alterações por vários fatores, como substâncias tóxicas ambientais, alimentação, tabaco, álcool e outros agentes infecciosos. Sendo o tabaco um fator de risco para a doença periodontal, a metilação dos tecidos periodontais tornou-se alvo de interesse de estudos epigenéticos em indivíduos fumadores (Gomez et al, 2009).

O tabaco provoca alterações a longo prazo de hiper e hipometilação no DNA e não só afeta fumadores atuais, como ex-fumadores. Num estudo realizado por Haffajee e Socransky (2001), os fumadores que apresentavam formas mais severas de periodontite, apresentavam maior perda óssea e bolsas periodontais mais profundas, quando comparadas com ex-fumadores e não fumadores. Estes autores também concluíram que existe uma associação entre o aumento do risco da perda de inserção com a idade e severidade da doença (Lod et al, 2014).

Todavia, a influência de fenómenos epigenéticos noutras doenças ainda se encontram indeterminados. Para contornar essa escassez de informação, foi proposto realizar estudos sobre a importância de fenómenos epigenéticos, tais como os padrões de metilação nos genes das citoquinas em doenças auto-imunes e inflamatórias. Os vários estudos realizados na expressão das citoquinas nestas doenças, comprovaram que fenómenos epigenéticos têm um papel importante na compreensão das variações interindividuais na resposta inflamatória (Larsson, Castilho, Giannobille, 2014).

Ao induzir uma alteração no perfil das citocinas, os processos epigenéticos podem então influenciar a patogênese e determinar a progressão de várias doenças infecciosas. Estas alterações podem estar na origem de certas doenças inflamatórias, nas quais a expressão de citocinas se encontra desregulada (Feinberg, 2007). Desses fenómenos epigenéticos que atuam nos genes das citocinas, destacam-se a ativação por desmetilação, expressão monoalélica, regulação associada ao ciclo celular e metilação. Alguns genes de citocinas, como a IL-2, IL-10, IL-6, TNF- $\alpha$ , entre outros, foram alvos de estudo dos seus mecanismos epigenéticos. (Gomez et al, 2009).

A metilação de DNA também se pode encontrar aumentada em quadros de inflamação crônica ou provocada por bactérias, que no contexto da cavidade oral, pode afetar o estado de metilação (Lod et al, 2014). Contudo, ainda não se conseguiu comprovar, que fenómenos epigenéticos estão por detrás da interação de infecções bacterianas com os tecidos periodontais ou como consequência dos processos inflamatórios que ocorrem. Assim, pode-se considerar que a resposta inflamatória de um hospedeiro pode ser afetada pela epigenética e contribuir para um fenótipo de periodontite (Gomez et al, 2009). Além de fatores genéticos do próprio hospedeiro, a magnitude de resposta inflamatória e imune também depende da sua interação com as bactérias do biofilme, podendo ser agravada pelo tabaco ou doenças sistêmicas como a diabetes (Barros, Offenbacher, 2014).

A metilação do DNA ocorre tanto em organismos eucariotas como procariotas, e num estudo realizado por Wu et al em 2006, observou-se que a enzima DNA metiltransferase da adenina, pode regular os genes que controlam a invasão de *A. Actinomycescomitans* (Lod et al, 2014). Curiosamente, certas alterações epigenéticas nas células, podem ser desencadeadas pelas próprias citocinas. Através da ativação de DNA metiltransferases, a IL-1 pode promover a repressão de vários genes (Gomez et al, 2009).

Num estudo em que se analisaram duas regiões no gene promotor de IL-6, observou-se uma metilação parcial deste. Apesar da metilação do gene de IL-6 ser algo frequente nos tecidos periodontais, encontraram-se localizações extremamente metiladas (-1069, -1061, -1057 e -491) nas ilhas de CpG e outras não-metiladas (-628, -610 e -574). Com esta análise, não foi possível confirmar uma associação do estado de metilação com gene de IL-6. Não foi possível estabelecer uma associação entre os estados de metilação

ou polimorfismos do gene de IL-6, e a sua expressão aumentada nos tecidos periodontais que se encontra na periodontite crônica (Stefani et al, 2013).

Outros dados demonstraram que pela capacidade de manter um estado metilado de certos os genes codificantes das DNMT, a sobreexpressão da IL-6 poderá ter uma influência epigenética na regulação dos genes (Nibali, 2009). Também se observou, que a sua sobreexpressão pode influenciar a expressão e atividade da DNA metiltransferase, demetilase ou expressão de histonas, que participam na regulação da metilação de genes. Estudos recentes indicam, que uma hipermetilação do gene de IL-6 é parcialmente provocada por uma repressão do próprio gene. Alguns estudos comprovaram, que a expressão de genes de citocinas humanas pode ser influenciada por modificações epigenéticas, o que pode afetar as células produtoras de citocinas na sua produção (Gomez et al, 2009).

Stenvinkel et al (2007) sugeriram que uma metilação do DNA pode ser estabelecida por infecções crônicas, o que inativa os supressores da expressão das citocinas, desencadeando uma sinalização excessiva. Esta descoberta tem a sua relevância devido à importância da IL-6 na reabsorção óssea em indivíduos com periodontite severa (Nibali et al, 2009).

Independentemente dos diferentes polimorfismos dos genes que codificam a IL-10, observaram-se modificações epigenéticas ao nível das histonas da região promotora do gene de IL-10, por estimulação dos lipopolissacáridos (Lod et al, 2014). Durante a diferenciação, podem ocorrer alterações nos padrões de metilação no gene de IL-10 (Gomez et al, 2009)

Na doença periodontal, uma transcrição inadequada de genes está associada à hipometilação e acetilação de histonas que pode influenciar a patogénese desta patologia (Larsson et al, 2014).

No *locus* do gene de TNF- $\alpha$ , a configuração epigenética é regulada pela metilação do DNA e pelas modificações das histonas (Bayarsaihan, 2011). Estudos demonstraram que a expressão do gene TNF- $\alpha$  é ativamente regulada por modificações epigenéticas, e que se encontra tanto constitutivamente como em resposta à estimulação aguda das células da linhagem mielóide (Gomez et al, 2009).

Apesar de a evidência científica que compara epigenética e a doença periodontal ainda ser escassa, estudos recentes relatam um aumento dos níveis de metilação do gene de IL-8 nas células epiteliais de indivíduos com periodontite agressiva e periodontite crónica (Stefani et al, 2013).

## **5. Periodontite e polimorfismos de citocinas**

Devido à influência dos fatores genéticos na resposta inflamatória que ocorre no periodonto, vários estudos investigaram polimorfismos genéticos com possível associação à periodontite crónica e agressiva. Como a periodontite é uma doença de carácter multifatorial e poligénico, cada gene por si só tem um efeito reduzido na sua expressão, sendo a relação com outros genes e fatores ambientais que determina a sua progressão (Ricci et al, 2011).

Uma hipótese bastante aceite na patogénese da periodontite, é a existência de um desequilíbrio entre as bactérias e o complexo de citocinas do hospedeiro que leva à destruição dos tecidos do periodonto (Barros, Offenbacher, 2014).

Em tecidos periodontais inflamados observa-se a presença de citocinas pró e anti-inflamatórias, tais como IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 e IL-4, e uma sobreexpressão de citocinas inflamatórias foi encontrada em indivíduos com doença periodontal (Gomez et al, 2009). Quando estas citocinas são lançadas no espaço extracelular, ligam-se a recetores específicos de células efectoras para ativar fibroblastos que secretam metaloproteinases, que são enzimas responsáveis pela degradação da matriz extracelular formada pelas bactérias. Na patogénese da doença periodontal, a IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  e a IL-6 são responsáveis pela expressão de genes responsáveis pela formação de outras moléculas que participam na resposta inflamatória (Barros, Offenbacher, 2014).

A análise de polimorfismos genéticos em pacientes com periodontite crónica foi objeto de estudo. Os estudos de polimorfismos genéticos na periodontite debruçam-se principalmente em genes funcionais, relacionados com a resposta imune e inflamatória de proteínas codificadoras, envolvidas na regulação imunológica e outras anomalias nos tecidos periodontais (Zhang, Sun, Xie, Xuan, Luo, 2011). Foi possível deduzir a partir de um modelo de estudo em ratos, que conjuntos circunspectos de diferentes genes

expressos, estão associados a uma suscetibilidade genética e a tolerância do osso alveolar perante agressões do microrganismo *Porphyromonas gingivalis* (Vieira, Albandar, 2014).

### 5.1 Polimorfismo do gene de IL-1

A interleucina 1 é uma citocina pró-inflamatória secretada por macrófagos, plaquetas e células endoteliais. Esta citocina tem bastante relevância na perda de osso alveolar na doença periodontal, pois estimula a reabsorção óssea e é um potente inibidor da formação de osso. Na presença de organismos patogénicos, existe uma estimulação da produção de IL-1 pelas células do hospedeiro, pelo que se encontram níveis elevados desta citocina na gengivite e na periodontite (Tataki, Kumar, 2005).

O polimorfismo do gene da IL-1, foi o primeiro em que foi comprovada uma associação com a periodontite crónica, e a partir desta descoberta, vários estudos concentraram-se na investigação de polimorfismos que tenham relação com o risco aumentado da periodontite (Vieira, Albandar, 2014).

Consoante as populações, os alelos da interleucina-1 diferem na sua expressividade. Kornman et al (1997), descreveram um genótipo associado à periodontite, constituído por um polimorfismo de nucleótido único – interleucina-1 $\alpha$  (-889) e interleucina-1 $\beta$  (+3953), numa transição C-T (Yoshie et al, 2007).

Em pacientes não-fumadores, foi estabelecida a associação de polimorfismos específicos da família da IL-1, com um aumento de severidade e a distinção entre casos ligeiros e mais severos da doença. Um genótipo específico de um polimorfismo associado à periodontite, consiste numa variação alélica que provoca o aumento da produção dos níveis de IL-1 (Kinane, Hart, 2003).

Gore et al (1998), e Galbraith et al (1999), confirmaram o estudo realizado por Kornman et al em 1997, que a severidade da doença periodontal encontra-se sujeita aos efeitos do tabaco e também a existência da associação do polimorfismo da interleucina-1 à periodontite. No entanto, num estudo realizado por Papapanu et al (2001), não se verificaram resultados estatisticamente diferentes no genótipo associado à periodontite entre os pacientes com a doença e o grupo controlo, mas encontrou-se evidência na severidade da doença associada ao genótipo ao analisar o nível de inserção periodontal (Yoshie et al, 2007).

A distribuição de polimorfismos da IL-1 entre pacientes com periodontite e pacientes de controlo, foi analisada tendo em conta como fatores o tabagismo e a presença de bactérias, tais como *Porphyromonas gingivalis* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Demonstrou-se uma maior frequência do alelo 2 no SNP interleucina-1 $\alpha$  (-889) e interleucina-1 $\beta$  (+3954) em pacientes não fumadores e na ausência de *P. gingivalis* e *A. Actinomycetemcomitans*. Neste estudo, foi comprovado que numa população caucasiana, na ausência de fatores de risco, os polimorfismos da IL-1 foram associados à periodontite severa (Yoshie et al, 2007). Ao analisar o genótipo constitutivo, verificou-se uma interação com o tabagismo, enquanto que em indivíduos não fumadores não demonstraram risco aumentado na presença do genótipo (Kinane, Hart, 2003).

Numa população heterogénea composta por indivíduos não-fumadores e ex-fumadores, que apresentam na sua constituição a combinação do alelo 2 de IL-1 nas localizações IL1A-1 (-889) e IL-1B (+3954), verificou-se um aumento na suscetibilidade à destruição dos tecidos e na progressão de periodontite moderada a severa (Hamdy, Ebrahem, 2011). Por outro lado, numa população caucasiana alemã, existe uma interação entre o genótipo da IL-1 e tabagismo, o que leva ao aumento do risco de periodontite crónica, enquanto que não se relatou qualquer risco para não-fumadores na presença da variante alélica. No entanto, estudos que envolveram indivíduos gregos, chineses, japoneses e tailandeses, não demonstraram qualquer relação entre suscetibilidade ou severidade na periodontite crónica e o genótipo de IL-1 (Yoshie et al, 2007).

Numa análise da distribuição de quatro polimorfismos de IL-1 em quatro populações (caucasiana, afro-americana, japonesa e chinesa), observou-se uma incidência semelhante do polimorfismo de IL-1 $\beta$  (-511). Os restantes polimorfismos mostraram distribuições diferentes nas populações. Os *loci* de IL-1 $\alpha$  (+4845) e IL-1 $\beta$  (+3954) encontraram-se com maior frequência na população caucasiana do que nas populações asiáticas. A distribuição destes polimorfismos na população afro-americana manteve-se em valores intermédios das outras populações (Zhang et al, 2011).

Cerca de 30% da população europeia apresenta o polimorfismo da família de IL-1 associada à periodontite (Kinane, Hart, 2003).



Na periodontite agressiva, não se obteve nenhuma conclusão entre os polimorfismos genéticos de IL-1 e a sua influência na suscetibilidade da doença, uma vez que os resultados obtidos foram inconclusivos em diversas raças, entre elas americanos-caucasianos, afro-americanas, europeus caucasianos e populações asiáticas. Em estudos em que se observou a associação do polimorfismo de IL-1 $\beta$  (+3954) e periodontite agressiva, encontrou-se a variante alélica 1 com maior frequência em pacientes com periodontite agressiva em populações caucasianas e afro-americanas. Por outro lado, o alelo 2 encontrou-se em pacientes de populações chilenas (Meng, Xu, Li, Han, Zhao, 2007).

Devido ao aumento que se verificou na suscetibilidade à periodontite agressiva numa população turca, devido à heterozigotia do polimorfismo do alelo 1 de IL-1 $\alpha$  (+4845) ou pela homozigotia de IL-1 $\beta$  (+3954), suscitou a possibilidade destes polimorfismos nesta população, se tornarem fatores de risco importantes da periodontite agressiva localizada (Zhang et al, 2011).

## 5.2 Polimorfismo do gene de IL-6

No caso do *single nucleotide polymorphism* da IL-6, que se trata uma interleucina pró-inflamatória, pode aumentar o risco de alterações inflamatórias por incremento do seu potencial perante agressões microbianas (Nibali, 2015). Uma hipótese que pode explicar a variedade interindividual na transcrição e expressão do gene de IL-6, poderá ser os polimorfismos da região promotora do mesmo (Zhang et al, 2011).

Um dos possíveis mecanismos responsáveis pela maior predisposição genética à periodontite, através de uma resposta inflamatória descontrolada e consequente destruição dos tecidos periodontais, deve-se a um aumento da atividade promotora de certos genes de IL-6 (Nibali et al, 2009).

Relativamente a variações desta interleucina na presença do microrganismo *A. Actinomycescomitans*, foi repetidamente comprovada uma ligeira associação com o aumento da resposta inflamatória na periodontite crónica e agressiva. Num estudo em que os indivíduos foram selecionados pelo seu genótipo, num haplótipo positivo para a IL-6, verificaram-se contagens elevadas de *A. Actinomycescomitans* antes do tratamento. Apesar de ter ocorrido uma descida nestas contagens após o tratamento, uma forte

correlação genética poderá ser a responsável pela sua recolonização, e por consequência, um aumento súbito das suas contagens nas consultas de seguimento (Nibali, 2015).

O SNP -174 G/C da região promotora foi associado a um aumento na severidade da doença periodontal devido a uma expressão aumentada de IL-6, no entanto, este estudo foi realizado com um número de indivíduos inferior a outros estudos realizados para o polimorfismo desta citocina, pelo que os resultados obtidos diferiam da literatura e podem ser inconclusivos. No entanto, outros estudos realizados com um maior número de indivíduos, suportariam a associação do genótipo GG com a severidade da periodontite (Stefani et al, 2013).

Numa população brasileira foi relatada a associação do polimorfismo -174 GG em dois estudos, e apesar de não ter havido distinção dos casos de periodontite crónica e periodontite agressiva, deduziu-se que os estudos abrangeram ambas as doenças periodontais. Em estudos realizados noutras populações sobre este polimorfismo na periodontite crónica, não se relataram quaisquer associações ou apenas se associava à severidade da doença. Os genótipos de IL-6, com os quais se observou uma associação com a periodontite agressiva, correspondem, aos genótipos em que se associa à presença de *A. Actinomycetemcomitans* na placa subgengival. Uma hipótese colocada sobre a inflamação periodontal excessiva que ocorre em certos genótipos hiperinflamatórios de IL-6, é a presença dos microrganismos *A. Actinomycetemcomitans* actua em simultâneo à estimulação da resposta inflamatória na periodontite agressiva (Nibali et al, 2009)

### 5.3 Polimorfismo do gene de IL-10

As propriedades anti-inflamatórias da IL-10, permitem a regulação da resposta imune e na produção de outras citocinas pró-inflamatórias (Tataki, Kumar, 2005). Perante polimorfismos na região promotora do gene de IL-10, existe uma influência na regulação da sua expressão (Meng et al, 2007).

A experiência de Kinane et al em 1999, em pacientes com periodontite de início precoce e pacientes saudáveis, ao analisar vários DNA microssatélites no *locus* de IL-10, fomentou o estudo de polimorfismos de IL-10 na patogénese da periodontite crónica ou agressiva. No entanto, os resultados obtidos foram sempre contraditórios. Numa meta-análise realizada para os polimorfismos de IL-10 nas posições (-1082), (-819) e (-592),

determinou como fatores de risco os polimorfismos IL-10 (-819) e (-592) para a periodontite crónica em caucasianos, enquanto não se encontrou qualquer associação de IL-10 (-1082) com a periodontite crónica ou agressiva. Segundo descrito na meta-análise de Zhong et al (2012), o polimorfismo de IL-10 (-819) (C>T) foi associado ao início de periodontite crónica numa população caucasiana, embora não afete a totalidade da população, devido à influência das diferentes raças presentes no genoma. Relativamente ao polimorfismo -592, verificou-se que o alelo A e o genótipo AA, era mais frequente em pacientes com periodontite crónica do que em pacientes com um periodonto saudável (Zhong, Ding, Wang, Sun, Xu, 2012).

Os SNP de IL-10 que ocorrem tanto na zona promotora do gene como nos exões, pode levar a uma diminuição do risco de desenvolver doença periodontal (Ianni et al, 2013).

Apesar de estudos realizados em várias populações, ainda não se comprovou uma associação entre a periodontite agressiva e o gene de IL-10 (Meng et al, 2007).

#### **5.4 Polimorfismo do gene de TNF- $\alpha$**

O TNF- $\alpha$  partilha a mesma contribuição da IL-1 na reabsorção óssea (Tataki, Kumar, 2005).

A sobreexpressão desta citocina nos tecidos periodontais, pode prejudicar o hospedeiro pois sendo normalmente regulada pela IL-10, se ocorrer um desequilíbrio do mecanismo de regulação pode levar ao desenvolvimento da doença. Num estudo em 1998, Galbraith e colaboradores analisaram os genótipos da TNF- $\alpha$  na periodontite crónica, mas não encontrou diferenças entre o grupo-controlo e o grupo de pacientes com periodontite. Em 2002, Craandijk e colaboradores, chegaram à mesma conclusão ao analisar quatro séries de polimorfismos (Kinane, Hart, 2003).

Questionou-se que a possibilidade dos níveis aumentados de TNF- $\alpha$  em pacientes com periodontite de início precoce ser a manifestação do alelo G em detrimento de A, do polimorfismo TNF- $\alpha$  (-308), ao influenciar a regulação da sua produção, bem como a sua secreção pelos monócitos em pacientes com periodontite agressiva localizada. No entanto, encontraram-se níveis de TNF- $\alpha$  mais elevados em pacientes periodontite

crónica e não agressiva quando comparados com os níveis de TNF- $\alpha$  em indivíduos saudáveis (Meng et al, 2007).

### 5.5 Outros polimorfismos de genes de interleucinas

Na ativação de uma toxina produzida por leucócitos estimulada pela presença de *A. Actinomycetemcomitans*, e a secreção de IL-1B e IL-18 pelos macrófagos, uma possível interação entre um polimorfismo da IL-1B pode provocar um sinergismo entre as interleucinas e o desequilíbrio na resposta inflamatória do hospedeiro (Nibali, 2015).

A IL-4 é uma citocina anti-inflamatória que participa na modulação das células B e na regulação dos macrófagos. A severidade da doença periodontal pode ser agravada por alterações no gene de IL-4 pela inibição da produção desta citocina. No entanto, ainda não se encontrou uma associação entre polimorfismos entre IL-4 e a periodontite agressiva (Meng et al, 2007).

Em lesões periodontais avançadas, observou-se um número elevado de células produtoras de IL-4, e a sua concentração também se encontra mais elevada em pacientes com periodontite crónica (Yoshie et al, 2007).

As características pró-inflamatórias de IL-8 podem afetar a patogénese da periodontite, devido à sua capacidade de atrair os neutrófilos ao local da inflamação. Se existir uma ativação descontrolada dos neutrófilos provocada pela excessiva secreção de IL-8, a inflamação gengival pode evoluir para a destruição dos constituintes do periodonto (Okada, Murakami, 1998).

---

## **III. CONCLUSÃO**



### **III. CONCLUSÃO**

O objetivo deste trabalho foi recolher o máximo de informação sobre a importância da genética numa patologia como a periodontite, e demonstrar como indivíduos que reúnam os mesmos fatores externos, apresentem diferentes estadios da doença.

Tratando-se de uma doença inflamatória, é expectável que a resposta do indivíduo seja comprometida devido a alterações que ocorrem ao nível da regulação da expressão dos seus genes, aumentando ou diminuindo a sua resposta inflamatória, pela alteração da taxa de atividade de certas proteínas.

Ao analisar vários estudos realizados sobre este tema, verificou-se uma diversidade de conclusões retiradas por vários autores, que tanto encontraram associações entre a epigenética e polimorfismos de certos genes de interleucinas com a periodontite, como também descartaram qualquer relação entre a doença e a expressão de certos genes das interleucinas.

Não é possível afirmar, que um certo polimorfismo ou alterações epigenéticas são responsáveis pelo desenvolvimento ou progressão da periodontite em toda a população, mas podem ser um fator de risco numa população específica e estar associado à periodontite.

No sentido de se conseguir realmente estabelecer uma associação entre a periodontite e a epigenética e polimorfismos genéticos, é necessário realizar mais estudos. Uma melhor compreensão da influência das alterações genéticas na patogénese da periodontite, permitirão o desenvolvimento de novas terapias da periodontite.





---

## **IV. BIBLIOGRAFIA**



#### IV. BIBLIOGRAFIA

Antonini, R., Cancellier, K., Ferreira, G. K., Scaini, G. & Streck, E. L. Fisiopatologia da doença periodontal. *Revista Inova Saúde*, 2013; 2

Armitage, G. C. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4 (I)

Barros, S. P., Offenbacher, S. Modifiable risk factors in periodontal disease Epigenetic regulation of gene expression in the inflammatory response. *Periodontology 2000* 2014; 64: 95-110

Bayarsaihan, D. Epigenetic Mechanisms in Inflammation. *J Dent res* 2011; 90(1): 9-17

Chapple, I. L. C. Periodontal diagnosis and treatment – where does the future lie? *Periodontology 2000* 2009; 51: 9-24

Delves, P. J., Martins, S. J., Burton, D. R., Roitt, I. M. (2013) Fundamentos de Imunologia (12<sup>a</sup> ed). Editora Guanabara Koogan LTDA.

Feinberg, A. P. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *NATURE* 2007; 447: 433-440

Gomez, R. S., Dutra, W. O., Moreira, P.R. Epigenetics and periodontal disease: future perspectives. *Inflammation Research* 2009; 58: 625-629

Hamdy, A. A. El-M. M., Ebrahim, M. A. El-M. The effect of allele 2 genotype (IL-1a<sup>-889</sup> and IL-1b<sup>+3954</sup>) on the individuals susceptibility to peri-implantitis: Case-Control study. *Journal of Oral Implantology* 2011; XXXVII (3): 325-334

Highfield, J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian Dental Journal* 2009; 54 (1 Suppl): S11-S26

Ianni, M., Bruzzesi, G., Pugliese, D., Porcellini, E., Cabone, I., Schiavone, A., Licastro, F. Variations in inflammatory genes are associated with periodontitis. *Immunity & Ageing* 2013; 10

- Joshiyura, V., Yadalam, U., Brahmavar, B. Aggressive periodontitis: A review. *Journal of the International Clinical Dental Research Organization* 2015; 7(1)
- Kinane, D. F., Hart, T. C. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Bio Med* 2003; 12(6): 430-449
- Kingston, H.M. (2015). ABC of Clinical Genetics (4th edition). BMJ Books
- Larsson, L., Castilho, R. M., Giannobile, W. V. Epigenetics and its role in periodontal disease. *Journal of Periodontology* 2015; 86: 556-568
- Lindhe, J., Lang, N. P. (2015). Clinical Periodontology and Implant Dentistry (6th edition). Wiley-Blackwell.
- Lindroth, A. M., Park, Y. J. Epigenetic biomarkers: a step forward for understanding periodontitis. *J Periodontal Implant Sci* 2013; 43: 111-120
- Lod, S., Johansson, T., Abrahamsson, K.H., Larsson, L. The influence of epigenetics in relation to oral health. *Int J Dent Hygiene* 2014; 12: 48-54
- McLeod, D. E. A practical approach to the diagnosis and treatment of periodontal disease. *JADA* 2000; 131: 483-491
- Meng, H., Xu, L., Li, Q., Han, J., Zhao, Y. Determinants of susceptibility in aggressive periodontitis. *Periodontology 2000* 2007; 43: 133-159
- Newman, M. G., Takei, H. H., Klokkevold, P. R., Carranza, F. A. (2014). *Carranza's Clinical Periodontology* (12th edition). Elsevier Saunders.
- Nibali, L. Aggressive Periodontitis: microbes and host response, who to blame?. *Virulence* 2015; 6: 223-228
- Nibali, L., D'Aiuto, F., Griffiths, G. S., Parkar, M., Tonetti, M. S., Humphries, S.E., Brett, P. M. Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. *Cytokine* 2009; 45: 50-54
- Okada, H., Murakami, S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Bio Med* 1998; 9(3): 248-266

Philstrom, B. L., Michalowicz B. S., Johnson, N. W. Periodontal diseases. *Lancet* 2005; 366: 1809-1820

Pierce, B. A. (2013). Genetics A conceptual Approach (5th edition). W. H. Freeman

Ricci, M., Garoia, F., Tabarroni, C., Marchisio, O., Barone, A., Genovesi, A., Covani, U. Association between genetic risk score and periodontite onset and progression: A pilot study. *Archives of Oral Biology* 2011; 56: 1499-1505

Rodrigo-Gómez D, Oteo-Calatayud A, Alonso-Rosado A, Bascones-Martinez A. El papel de la genética en la aparición y desarrollo de la periodontitis. I: evidencias científicas de la asociación entre periodontitis y genética. *Av Periodon Implantol.* 2007; 19, 2: 71-83.

Schulz, S., Immel, U. D., Just, L., Schaller, H-G., Glaser, C., Reichert, S. Epigenetic characteristics in inflammatory candidate genes in aggressive periodontitis. *Human Immunology* 2016; 77: 71-75

Srinivasan, P.C. The emerging role of epigenetics in the pathogenesis of periodontitis - A review. *South African Dental Journal* 2016; 71 (1): 26-33

Stefani, F. A, Viana, M. N., Dupim, A. C., Brito, J. A. R., Gomez, R. S., Costa, J. E., Moreira, P. R. Expression, polymorphism and methylation pattern of interleukin-6 in periodontal tissues. *Immunobiology* 2013; 218: 1012-1017

Tatakis, D. N., Kumar, P. S. Etiology and Pathogenesis of Periodontal Diseases. *Dent Clin N Am* 2005; 49: 491-516

Vieira, A. R., Albandar, J. M. Role of genetic factos in the pathogenesis of aggressive periodontitis. *Periodontology 2000* 2014; 65: 92-106

Wolf, D. L., Lamster, I. B. Contemporary Concepts in the Diagnosis of Periodontal Disease. *Dent Clin N Am* 2011; 55: 47-61

Yoshie, H., Kobayashi, T., Tai, H., Galicia, J. C. The role of genetic polymorphisms in periodontitis. *Periodontology 2000* 2007; 43: 102-132

Zhang, J., Sun, X., Xie, C., Xuan, D., Luo, G. Gene polymorphisms and periodontitis. *Periodontology 2000* 2011; 56: 102-124

Zhong, Q., Ding, C., Wang, M., Sun, Y., Xu, Y. Interleukin-10 gene polymorphisms and chronic/aggressive periodontitis susceptibility: A meta-analysis based on 14 case-control studies. *Cytokine* 2012; 60: 47-54